Lane Medical Library

Aus der medizinischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses Altona.

192

Über das Membrangleichgewicht und den kolloidosmotischen Druck des Serums.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
einer Hohen medizinischen Fakultät
der Georg August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von
Gerhard Hecht
aus Göttingen.

1925 GÖTTINGEN 1925

Die Drucklegung der nachstehenden Dissertation wird genehmigt.

Göttingen, den 18. Dezember 1925.

Referent: Professor Dr. Heubner.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154024_0432

Über das Membrangleichgewicht und den kolloidosmotischen Druck des Serums.

Von

Gerhard Hecht.

(Aus der medizinischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses Altona.)

(Eingegangen am 4. September 1925.)

Mit 3 Abbildungen im Text.

I.

Krogh[1]) führt in seinem Buche über die Anatomie und Physiologie der Kapillaren des näheren aus, daß man den kolloidosmotischen Druck des Blutes als eine Größe ansehen muß, die für den Wasserwechsel der Gewebe von ausschlaggebender Bedeutung ist; *Krogh* sowie *Schade* und *Claussen*[2]) haben gezeigt, daß bei der markantesten Störung des Flüssigkeitswechsels, dem Ödem, tatsächlich eine Verminderung des kolloidosmotischen Druckes zur Beobachtung kommen kann. Nach *Schade* und *Claussen* unterscheiden sich Ödeme verschiedener Pathogenese dadurch, daß bei Kreislaufödemen keine Verminderung vorhanden ist, während sie bei Nierenödemen mit starker Störung im Bluteiweißbild mit großer Regelmäßigkeit gefunden wurde. Als ich mich von klinischen Gesichstpunkten aus mit Messungen des kolloidosmotischen Druckes menschlicher Sera beschäftigte, erschien mir eine Aufklärung der physikalisch-chemischen Bedeutung dieser Größe wünschenswert, um so mehr, als die theoretischen Kenntnisse über diese „wasserbindende Kraft" zu der steigenden physiologischen und pathologischen Bedeutung derselben in unbefriedigendem Mißverhältnis zu stehen scheinen. Die nähere Anregung dazu gaben mir die Arbeiten von *J. Loeb*, die in seinem letzten Buche über die Eiweißkörper[3]) zusammengefaßt sind, und deren wesentlicher Inhalt darin besteht, daß die *Donnan*sche Theorie der Membrangleichgewichte, wie auf eine Reihe anderer Eigenschaften, so insbesondere auf den osmotischen Druck von Proteinsolen angewendet wird.

---

[1]) Berlin 1924.
[2]) Zeitschr. f. klin. Med. **100**, 363, 1924.
[3]) Berlin 1924.

Donnan[1]) wies bereits bei der Ableitung dieser Theorie darauf hin, daß sie für die Biologie von Bedeutung sei, da in den meisten biologischen Objekten die Voraussetzung für die Entwicklung eines Membrangleichgewichts gegeben sei. Der erste Schritt in dieser Richtung mußte in der Anwendung der Theorie auf eiweißartige Substanzen bestehen; dies ist in den Arbeiten *Procters*[2]) zuerst geschehen, der die Quellung von Gelatinegelen erfolgreich in Beziehung zum Donnangleichgewicht brachte. In der von *Procter* eingeschlagenen Richtung ist *J. Loeb* in den genannten Arbeiten weitergegangen, indem er zum Studium von Gelatine- und anderen Proteinsolen überging. Das osmotische Verhalten solcher, denen Säuren, Laugen oder Salze zugesetzt worden waren, fand er in quantitativ außerordentlich guter Übereinstimmung mit den Konsequenzen, die die Theorie des Membrangleichgewichts hierfür ergibt.

Die eigenartigen Verteilungsverhältnisse der Ionen, die bei der Dialyse von tierischem Serum auftreten, sind aus den Arbeiten *Ronas*[3]) schon lange bekannt. Zu ihrer Erklärung ist in neuerer Zeit durch *Rona* und *Petow*[4]) und durch *Atchley*, *Loeb* und *Benedict*[5]) auch ein Membrangleichgewicht im Sinne *Donnans* angenommen worden. Wenn somit das Vorhandensein eines Membrangleichgewichts von meßbarer Größe bei der Dialyse von Serum mindestens wahrscheinlich war, andererseits aber die Beziehungen zwischen kolloidosmotischem Druck und Membrangleichgewicht, wie sie aus den *Donnan*schen Formeln hervorgehen, von *Loeb* und *Procter* mit Erfolg auf Eiweißkolloide angewendet wurden, so mußte es auch möglich sein, den kolloidosmotischen Druck des Serums unter dem Gesichtspunkte des Donnangleichgewichts zu analysieren. Darin soll die Aufgabe der vorliegenden Arbeit bestehen.

Es sei gestattet, zunächst eine kurze Beschreibung des Donnangleichgewichts in einer möglichst allgemeinen, aber leicht auf das Serum anwendbaren Form zu geben, um daraus die hier notwendigen mathematischen Größen abzuleiten.

Ein solches Gleichgewicht tritt bekanntlich dann auf, wenn zwei Elektrolytlösungen durch eine Membran getrennt sind, die für ein nur in der einen Lösung vorhandenes Ion undurchlässig, für alle anderen Ionen durchlässig ist. Es wird also bei der Einstellung des Verteilungsgleichgewichts das Salz, dem das nicht diffundierende Ion angehört, auf einer Seite der Membran zurückbleiben, und das diffundierbare Salz verteilt sich nun auch nicht gleichmäßig, wie man erwarten könnte, sondern wird zum Teil auf die andere Seite „verdrängt". *Donnan* hat hierfür aus thermodynamischen Überlegungen die Gleichgewichtsbedingung abgeleitet; sie besteht darin, daß keine Änderungen der Konzentrationen mehr eintreten, wenn die Produkte aus den diffusiblen Ionen zu beiden Seiten der Membran gleich sind. Es sei in einem

[1]) Zeitschr. f. Elektrochem. **17**, 572, 1911.
[2]) Journ. of the Chem. Soc. **105**, 313, 1914; **109**, 307, 1916.
[3]) Diese Zeitschr. **29**, 501, 1910; **48**, 278, 1913.
[4]) Ebendaselbst **137**, 356, 1923.
[5]) Proc. of the soc. f. exper. Biol. and Med. **20**, 238, 1923.

Beispiel ein indiffusibles negatives Ion vorhanden, das, wie es ja bei Eiweißkörpern der Fall ist, viele Ladungen trägt. Bezeichnet man die für den osmotischen Druck in Frage kommende Konzentration der Teilchen mit $\mathfrak{R}$, die Zahl der Ladungen des einzelnen Ions mit n, dann ist die Äquivalenzkonzentration $n \,.\, \mathfrak{R}$. Die diffusiblen Ionen seien einwertig, das diffusible Anion habe nach Einstellung des Gleichgewichts auf der Seite des indiffusiblen (innen) die Konzentration A^-, auf der anderen Seite (außen) a^-; das Kation entsprechend K^+ und k^+. Das System kann durch das Schema

$$\begin{matrix} A^- \\ n \,.\, \mathfrak{R}^- \end{matrix}; \; K^+ \,|\, a^-; \; k^+$$

dargestellt werden. Die Gleichgewichtsbedingung ist dann also

$$A^- \,.\, K^+ = a^- \,.\, k^+.$$

Die osmotischen Drucke der beiden Lösungen sind nun R, $T(\mathfrak{R} + A^- + K^+)$ und $RT(a^- + k^+)$, die Druckdifferenz, die, im Falle eines kolloiden indiffusiblen Ions, als der kolloidosmotische Druck zu bezeichnen ist, ist $RT[\mathfrak{R} + A^- + K^+ - (a^- + k^+)]$. Da a^- und k^+ untereinander gleich sind und sich infolgedessen aus der Gleichgewichtsgleichung ableiten läßt, daß $a^- = \sqrt{A^- \,.\, K^+}$ ist, so läßt sich dieser Ausdruck umformen in $RT\left(\mathfrak{R} + A^- + K^+ - 2\sqrt{A^- \,.\, K^+}\right)$.

Dies besagt über das Verhalten der Druckdifferenz bei verschiedenen Konzentrationen an diffusiblem Salz folgendes: Ist kein solches vorhanden, also A^-, a^- und $k^+ = 0$, so ist K^+ äquivalent den Ladungen des indiffusiblen Ions, also $n \,.\, \mathfrak{R}$; der Druck wird $RT(\mathfrak{R} + K^+)$, verhält sich also so, als sei die Membran für beide Ionen undurchlässig. Ist dagegen Salz vorhanden, so wird der Druck kleiner, und zwar kann er maximal zu $\mathfrak{R}$, dem Druck der indiffusiblen Ionen allein, herabgedrückt werden, nämlich dann, wenn so viel Salz da ist, daß ihm gegenüber $n \,.\, \mathfrak{R}$ praktisch gleich 0 wird, und also $A^- = K^+$ ist. Denn dann wird der Ausdruck $A^- + K^+ - 2\sqrt{A^- \,.\, K^+} = 0$.

Man hat deswegen von einer Herabsetzung des „wahren" osmotischen Druckes durch Salze gesprochen. Für Eiweißkörper ist die Betrachtung vom umgekehrten Standpunkt fruchtbarer, wie sie *Procter* und *J. Loeb* angewendet haben. Denn hier bedeutet $\mathfrak{R}$ den der Konzentration der Eiweißteilchen allein entsprechenden Druck; zu ihm kommt die durch den Salzgehalt und den Ionisationszustand der Eiweißteilchen bestimmte Größe $A^- + K^+ - 2\sqrt{A^- \,.\, K^+}$, die *J. Loeb* in einer etwas abweichenden Formulierung daher treffend als die „Donnankorrektur" des kolloidosmotischen Druckes bezeichnet. Das wesentliche Ergebnis der *Loeb*schen Untersuchungen hinsichtlich des kolloidosmotischen Druckes besteht nun darin, daß sich die starken Ver-

nderungen desselben, die bei Säure-, Alkali- oder Salzzusatz zu Gelatine-olen auftreten, allein durch die Veränderungen der Donnankorrektur rklären, die er aus der Ionenverteilung berechnet, während die Zahl er Eiweißteilchen unter diesen Verhältnissen nahezu konstant zu leiben scheint. Dementsprechend war jetzt die hier gestellte Aufgabe arin zu sehen, die Anteile der Teilchenkonzentration und der Donnan-orrektur am kolloidosmotischen Druck des Serums zu bestimmen.

Beim Serum sind die Verhältnisse gegenüber dem oben gegebenen infachen Beispiel noch dadurch kompliziert, daß an diffusiblen Ionen nicht nur von jedem Ladungssinn eine Art vorhanden ist, sondern mehrere, und zwar nicht nur ein-, sondern auch mehrwertige. Vernachlässigt man zunächst die mehrwertigen, was bei ihrer geringen Menge ohne merklichen Fehler erlaubt sein dürfte, so ist für je zwei beliebige, entgegengesetzt geladene Ionen die Gleichgewichtsbedingung, daß die Produkte ihrer Konzentrationen im Serum und im Dialysat gleich sind. Es seien die betreffenden Konzentrationen im Serum A_1, A_2, $A_3 \ldots$, K_1, K_2, $K_3 \ldots$, im Dialysat a_1, a_2, $a_3 \ldots$, k_1, k_2, $k_3 \ldots$, bildet man aus diesen sämtliche Gleichungen von der Form $A_1 \cdot K_1 = a_1 \cdot k_1$; $A_1 \cdot K_2 = a_1 \cdot k_2$ usw., so führt deren Addition zu dem einfachen Ausdruck $(A_1 + A_2 + A_3 \ldots)(K_1 + K_2 + K_3 \ldots) = (a_1 + a_2 + a_3 \ldots)(k_1 + k_2 + k_3 \ldots)$, d. h. für die Gegenwart beliebig vieler einwertiger Ionen ist die Gleichgewichtsbedingung die, daß die Produkte aus den Summen aller Ionen derselben Ladung zu beiden Seiten der Membran gleich sind. Es folgt daraus, daß man die in dem oben genannten Beispiel abgeleiteten Ausdrücke ohne weiteres auf das Serum anwenden kann, wenn man unter A^- und a^- die Summen der Konzentrationen der Anionen, unter K^+ und k^+ die der Kationen verstehen will.

In den Ausdruck der Donnankorrektur $A^- + K^+ - 2\sqrt{A^+ \cdot K^-}$ gehen nur Größen ein, die durch genaue Analysen des Serums allein prinzipiell bestimmbar sind, ohne daß überhaupt ein Dialyseversuch nötig wäre. *Kramer* und *Tisdall*[1]) geben an, daß das Serum im Mittel 0,1585 Äquivalente Kationen und 0,1327 Anionen enthält. Diese Werte sind nicht ohne weiteres für A^- und K^+ einzusetzen, da ja die chemischen Analysen nicht nur die Konzentrationen der Ionen, sondern die Gesamtmengen der betreffenden Substanz anzeigen. Dennoch ist eine vorläufige Berechnung mit Hilfe dieser Zahlen möglich, wenn man bedenkt, daß die Differenz zwischen den Gesamtmengen wahrscheinlich auf den ionisierten Anteil entfällt; denn die nicht ionisierten Salze beanspruchen äquivalente Mengen Anionen und Kationen. Auch ist von *Neuhausen* und *Marshall*[2]) durch elektrochemische Messung

[1]) Journ. of biol. Chem. **53**, 241, 1922.
[2]) Ebendaselbst **53**, 365, 1922.

wahrscheinlich gemacht, daß wenigstens Cl und Na ziemlich vollständig als Ionen vorhanden sind. Die Differenz zwischen A^- und K^+ würde dann entsprechend den Analysen von *Kramer* und *Tisdall*[1]) 25,8 Millimol betragen[2]). Für die absolute Größe von A^- könnte man nun zwei denkbare Extreme, etwa die, die einer Ionisation von 80 und von 90 Proz. der analytisch gefundenen Gesamtmenge der Säureäquivalente entsprechen, in die Berechnung einsetzen, und es würden die dabei gefundenen Werte der Donnankorrektur für diese Grenzfälle nicht erheblich voneinander abweichen. Die Berechnung soll aber nicht durchgeführt werden, da außer den bisher genannten Voraussetzungen, die quantitativ noch unsicher sind, noch ein ernster Einwand dagegen vorgebracht werden kann. Die Differenz von A^- und K^+ entspricht, wie aus dem oben gegebenen Schema ersichtlich, der Zahl der Ladungen des indiffusiblen Ions. Es ist auch bisher allgemein angenommen worden, daß dieses analytisch im Serum gefundene „Anionendefizit" durch die negativen Ladungen der Eiweißkörper gedeckt sei. Dies ist aber neuerdings von *Mond*[3]) angezweifelt worden, der nicht glaubt, daß das Serumeiweiß in diesem Ausmaß ionisiert sein könne, dagegen für das Anionendefizit eine durch elektrometrische Titration des Serumdialysats gefundene unbekannte organische Säure in Anspruch nimmt. Dadurch würden diese Berechnungen hinfällig werden.

II.

Es war daher unerläßlich, zur Bestimmung der erforderlichen Größen den Dialyseversuch heranzuziehen; und zwar konnte er auf zwei Weisen ausgenutzt werden, nämlich durch Vergleichen der Analysen im Serum und im Dialysat und durch Messung des zwischen den beiden Flüssigkeiten auftretenden elektrischen Potentials. Beide Möglichkeiten führen wieder nicht zur Kenntnis der absoluten Größe der in Frage kommenden Ionenkonzentrationen, doch konnte damit eine für das Membrangleichgewicht charakteristische Größe bestimmt werden, nämlich das Verhältnis, in dem sich die Ionen zwischen Serum und Dialysat verteilen. Dieses Verhältnis ist für alle (einwertigen) Anionen das gleiche, und zwar sowohl für ein einzelnes Anion wie für die Summe sämtlicher, also $a^- : A^-$. Für die Kationen ist es der reziproke Wert.

[1]) l. c.

[2]) Anmerkung bei der Korrektur: *Marrack* (Biochem. Journ. **17**, 240, 1923) hält diesen Betrag des Anionendefizits für zu groß. Er findet an anorganischen Anionen 0,132, an Kationen 0,143 Mol. Siehe auch die Zusammenstellung der Werte von *Heubner*, Mineralstoffwechsel in *Dietrich-Kaminer*, Handb. d. Balneologie **2**, 193, 1922.

[3]) Pflügers Arch. **199**, 187, 1923.

Es sollen nun zunächst die Ergebnisse der chemischen Analysen besprochen werden.

1. *Chlor.* *Rona*[1]) beobachtete schon 1910 bei Kompensationsdialyseversuchen, daß das Chlor bei der Dialyse von Serum sich im Dialysat in höherer Konzentration findet. In der neuesten Arbeit von *Rona*, *Haurowitz* und *Petow*[2]) wird mittels der Methode einer modifizierten Kompensationsdialyse festgestellt, daß keine Verschiebung des Chlorgehaltes mehr eintritt, wenn das Serum 0,365 und das Dialysat 0,42 Proz. Cl′ enthält, wenn also in diesem 15 Proz. mehr als im Serum ist. Bei meinen eigenen Analysen, die zum größten Teile nach der Messung des kolloidosmotischen Druckes an den dazu benutzten Flüssigkeiten vorgenommen wurden, fand ich im Mittel von 20 Versuchen im Serum 0,410, im Dialysat 0,469 Proz. Cl, im letzteren also 14,5 Proz. mehr, in guter Übereinstimmung mit *Ronas* Ergebnissen. Bei der Ultrafiltration ist der Chlorüberschuß des Filtrats meist geringer: *Neuhausen* und *Pinkus*[3]) fanden etwa 11 Proz., *Rusznyák*[4]), hier mit hohem Druck filtriert, nur 3 Proz. Offenbar ist der Filtrationsdruck hier nicht ohne Einfluß; man kann deswegen das Ultrafiltrat auch dann dem Dialysat nicht als gleichwertig ansehen, wenn sich die Flüssigkeitsmengen nur unwesentlich ändern.

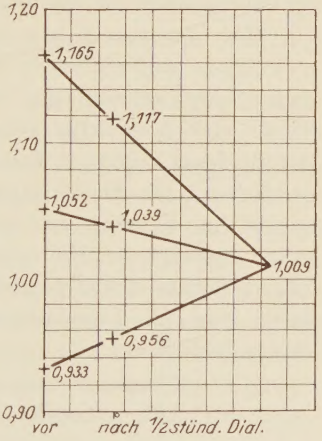

Abb. 1.

2. *Natrium.* Über das Natrium liegen in der Literatur nur wenig Versuche vor. *Rona*, *Haurowitz* und *Petow*[5]) geben an, daß bei der Kompensationsdialyse keine Verschiebung mehr eintritt, wenn das Serum etwa 0,305, die Außenlösung 0,320 Proz. Na enthält. Man kann aber die in der Tabelle V ihrer Arbeit mitgeteilten Versuche noch genauer auf graphischem Wege auswerten. Rechnet man die Konzentrationen der Dialysate in der Weise um, daß man diejenigen der dazugehörigen Sera als eins nimmt, berechnet dann aus den je vier Versuchen a, b und c die Mittel und zeichnet die Analysen der Außenlösungen vor und nach der Dialyse im beliebigen Abstande in ein Koordinatensystem, so schneiden sich die Verbindungslinien fast genau in einem Punkte, und dieser entspricht der Konzentration der Außenlösung, bei der keine Veränderung mehr eintreten wird (s. Abb. 1). Er liegt bei 1,009. Man kann also mit ziemlicher Sicherheit sagen, daß das Dialysat im Gleichgewicht etwa 1 Proz. Na mehr enthält als das Serum. Einige eigene Versuche ergaben im Durchschnitt ebenfalls einen ganz wenig größeren Natriumgehalt des Dialysats, doch waren die Schwankungen zu groß, als daß ich sie verwerten möchte. *Neuhausen* und *Pincus*[5]) fanden in einem Ultrafiltrationsversuch im Serum 0,336 Proz. Na, im Filtrat

[1]) Diese Zeitschr. **29**, 501, 1910.
[2]) Ebendaselbst **149**, 393, 1924.
[3]) Journ. of biol. Chem. **57**, 99, 1923.
[4]) Diese Zeitschr. **110**, 60, 1920.
[5]) l. c.

ebenfalls 0,336, im Rückstand 0,317 Proz., *Atchley, Loeb* und *Benedict* geben ohne Zahlen an, im Serum und Dialysat gleichen Natriumgehalt gefunden zu haben.

3. *Bicarbonat.* Über die Verteilung des Bicarbonats fand ich bei *Rona*[1]) und bei *Atchley, Loeb* und *Benedict*[2]) die Angabe, daß sie etwa gleichmäßig sei. In einer Reihe eigener Versuche, bei denen unter Luftabschluß dialysiert und dann die CO_2 im *Barcroft*schen Manometer bestimmt wurde, ergab sich, allerdings mit unerklärlich großen Schwankungen, daß der Gehalt an Gesamtkohlensäure im Dialysat im Mittel 13 Proz. größer ist. Da die Sera, die ich verwendete, einige Zeit an der Luft gestanden hatten, so enthielten sie kaum freie Kohlensäure, so daß diese Differenz auf das Bicarbonat zu beziehen ist. Die Verteilung desselben scheint also nach meinen Versuchen der des Chlors ziemlich ähnlich zu sein. Doch muß man diese Frage für noch nicht geklärt ansehen. Die übrigen Ionen kommen quantitativ für unsere Fragestellung kaum in Betracht. Immerhin ist es beachtenswert, daß *Rona* und *Petow*[3]) für das Kalium einen anderen Verteilungstypus als für das Natrium feststellen konnten.

Um nun aus diesen Analysen das Verhältnis $a^- : A^-$ berechnen zu können, muß einerseits der undissoziierte Anteil subtrahiert werden, andererseits müssen die in der Volumeneinheit Serum gefundenen Werte eine Korrektur erfahren, die den „nichtlösenden Raum" des Serums berücksichtigt. Dies möge durch Multiplikation mit dem Faktor x geschehen. Die Dissoziation betrage 85 Proz.; dann wird der undissoziierte Anteil innen und außen 15 Proz. der gesamten Konzentration außen ausmachen. Die analytisch gefundenen Mengen in der Volumeneinheit Serum und Dialysat seien für Na und Cl: Na_S, Na_D, Cl_S, Cl_D. Dann sind die Ionenkonzentrationen, im Serum auf den lösenden Raum korrigiert,

$$Na_i = x\,Na_S - 0{,}15\,Na_D \quad | \quad Na_a = 0{,}85\,Na_D$$
$$Cl_i = x\,Cl_S - 0{,}15\,Cl_D \quad | \quad Cl_a = 0{,}85\,Cl_D.$$

Da nun die Gleichgewichtsbedingung $Na_i \,.\, Cl_i = Na_a \,.\, Cl_a$ ist, so ist

$$(x\,Na_S - 0{,}15\,Na_D)\,(x\,Cl_S - 0{,}15\,Cl_D) = 0{,}85\,Na_D \,.\, 0{,}85\,Cl_D.$$

Nehmen wir jetzt, da die Gleichung keine absoluten Werte verlangt, Na_S und $Cl_S = 1$ an, so ist also nach dem Ergebnis der Analysen $Na_D = 1{,}01$ und $Cl_D = 1{,}145$. Setzen wir diese Werte in die Gleichung ein und lösen sie nach x auf, so ergibt sich $x = 1{,}0757$. Berechnet man hieraus den nichtlösenden Raum, der gleich $1 - 1/x$ ist, so ergeben sich 7,04 Proz. Der Wert von x ändert sich übrigens nur minimal, wenn man bei der Berechnung von einem anderen Dissoziationsgrad ausgeht: bei vollständiger Dissoziation wäre $x = 1{,}0753$, bei 80 Proz. ist $x = 1{,}0759$.

[1]) Diese Zeitschr. **48**, 278, 1913.
[2]) Proc. of the soc. f. exper. Biol. and Med. **20**, 238, 1923.
[3]) l. c.

Polányi[1]), von dem ich den Ausdruck „nichtlösender Raum" ablehnte, fand für denselben mit anderen Methoden Werte derselben Größenordnung. Zu einem unverständlichen Ergebnis führt es aber, wenn man das Volumen der dispersen Phase ganz vernachlässigt, wie es bisweilen geschehen ist. So kommt *Meier-Gollwitzer*[2]) auf Grund dieser Nichtbeachtung zu der widersprechenden Annahme, daß zwar die Chlor-, aber nicht die Natriumionen den Forderungen des Membrangleichgewichts folgten. Die Theorie erfordert aber, daß, wenn überhaupt ein Verteilungsgleichgewicht vorhanden ist, dann alle Ionen in der geschilderten Weise daran teilhaben. Findet man eine andere Verteilung, so muß man entweder die Annahme des Donnangleichgewichts ablehnen oder aber für die betreffende Substanz eine besondere — etwa komplexe — Ionisationsform annehmen.

Setzt man nun x in die Gleichungen ein und berechnet $Na_i : Na_a$ und $Cl_a : Cl_i$, so ergibt sich 1,077. Dies ist das gesuchte Verhältnis $a^- : A^-$.

Hier ist die Variation mit dem angenommenen Dissoziationsgrad etwas größer: bei 100 Proz. ist $a^- : A^- = 1{,}065$, bei 80 Proz. 1,082. Dieser Berechnung liegt wieder die vielleicht nicht unanfechtbare Voraussetzung zugrunde, daß das Cl und Na nur in Form gewöhnlicher Salze vorliegen. Es ist bereits oben erwähnt worden, daß die Versuche von *Neuhausen* und *Marshall* diese Annahme stützen; da man außerdem bei der Addition der analytisch gefundenen Salze ohnedies schon Schwierigkeiten hat, die osmotische Konzentration zu erklären, so ist es sicher erlaubt, etwaige Komplexionisationen hier zu vernachlässigen. Weiter könnten undissoziierte Verbindungen mit den Eiweißkörpern bestehen: für das Chlor ist dies bei deren negativer Ladung auszuschließen, und für das Natrium kann man nach dem Befunde *Monds*[3]), daß die Pufferungskurve des Serums im Gebiet der normalen Reaktion durch Kochsalzzusatz kaum beeinflußt wird, schließen, daß ebenfalls kaum undissoziiertes Natriumalbuminat vorhanden ist.

III.

Ein dritter Weg zur Bestimmung des Verteilungsverhältnisses $a^- : A^-$ benutzt das zwischen den beiden durch die Membran getrennten Lösungen bestehende Potential. Dies ist ebenfalls von *Donnan* bei der Darlegung der Membrangleichgewichte theoretisch abgeleitet worden. Ein Potential, das aus der Konzentrationsdifferenz eines Ions hervorgeht, ist $RT \ln C_1/C_2$. Da beim Membrangleichgewicht für alle Anionen das

[1]) Diese Zeitschr. **104**, 237, 1920.
[2]) Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **46**, 15, 1925.
[3]) Pflügers Arch. **200**, 422, 1923.

Verhältnis $C_1 : C_2$ dasselbe ist, so ist das Membranpotential ohne weiteres $RT \ln a^-/A^-$. Natürlich geben die entgegengesetzt geladenen Kationen, die sich alle im umgekehrten Verhältnis verteilen, das gleiche Potential. Dieses Potential muß nun durch Ableitung mit zwei Kalomelelektroden aus den beiden Flüssigkeiten meßbar sein.

In einigen Vorversuchen ging ich in der Weise vor, daß ich kleine, etwa 1 ccm fassende Dialysierhülsen mit Serum füllte, verschloß und in Röhrchen mit etwa 0,5 ccm Ringer einige Stunden stehenließ. Dann wurden Serum und Dialysat durch enge Glasröhren mit Gefäßen in Verbindung gebracht, die mit gesättigter KCl-Lösung gefüllt waren, in diese tauchten die Elektroden. Es ergaben sich Spannungen, die zwischen 1 und 4 Millivolt lagen. Sie waren zeitlich nicht konstant, wohl deshalb, weil in das Serum allmählich Flüssigkeit hereinströmte.

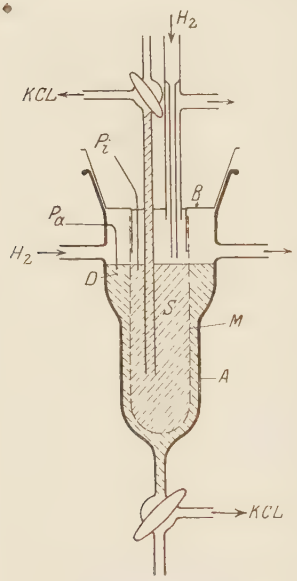

Abb. 2. Erläuterung s. Text, etwa 1/2 natürliche Größe.

Um diesen Übelstand zu beseitigen und um gleichzeitig die Wasserstoffionenkonzentration bestimmen zu können, benutzte ich den in der Abb. 2 dargestellten Apparat. Er besteht aus einem äußeren Gefäß A, das unten in einen Dreiweghahn endigt, durch den eine Verbindung mit gesättigter KCl-Lösung hergestellt werden kann. In dieses paßt ein Verschlußteil B, der auf einem angesetzten Rohre die Dialysiermembran trägt, die hier luftdicht befestigt wird. Dadurch werden die beiden Räume S und D zur Aufnahme des Serums und des Dialysats getrennt. Das Serum kann durch ein weiteres Rohr mit Dreiweghahn mit gesättigter KCl-Lösung verbunden werden. P_i und P_a sind platinierte Platindrähte. Durch die mit H_2 bezeichneten Röhrchen kann Wasserstoff in der Richtung der Pfeile hindurchgeleitet werden.

Der Apparat wurde nun innen mit Serum und außen mit Ringer gefüllt und durch die beiden Räume etwa 20 Minuten lang Wasserstoff geleitet. Dann wurden sie beide mit Manometern in Verbindung gebracht und der Druck so eingestellt, wie es dem kolloidosmotischen Druck des Serums entspricht, also mit einem Überdruck von 3 cm Hg auf der Seite des Serums. Jetzt wurde das Ganze zur Dialyse 6 bis 8 Stunden stehengelassen und nur von Zeit zu Zeit der Druck neu eingestellt. Danach wurden die Messungen ausgeführt, und zwar mit Hilfe der

für die Bestimmung des Wasserstoffpotentials üblichen Kompensationsanordnung. Die Tabelle zeigt die Ergebnisse an acht verschiedenen Seren, die als normal anzusehen waren. Sie stammen von leicht CO-vergifteten, Hypertonikern, Neurasthenikern und ähnlichen Fällen. Die Zahlen bedeuten Potentiale in Millivolt, H_i und H_a sind die beiden Wasserstoff-, K_i und K_a die beiden Kalomelelektroden; $H_i - K_i$ ist also das Potential zwischen der Wasserstoff- und Kalomelelektrode des Serums, $H_a - K_a$ dasselbe im Dialysat, die beiden Spalten 2 und 4 sind kreuzweise gemessen.

Tabelle.

Nr.	1 $H_i - K_i$	2 $H_i - K_a$	3 $H_a - K_a$	4 $H_a - K_i$	5 $K_i - K_a$ (direkt)	6 1–2	7 3–4	8 $K_i - K_a$ (berechnet)
1	708,35	710,2	—	—	—	1,85	—	1,85
2	711,4	713,0	713,8	712,1	1,9	1,6	1,7	1,65
3	712,9	714,8	702,8	700,8	1,8	1,9	2,0	1,95
4	713,0	714,8	693,9	692,3	2,3	1,8	1,6	1,7
5	713,6	715,3	691,3	689,8	—	1,7	1,5	1,6
6	720,0	721,9	708,0	706,1	—	1,9	1,9	1,9
7	718,0	719,7	689,6	688,0	—	1,7	1,6	1,65
8	722,4	724,6	705,6	703,4	—	2,2	2,2	2,2
							Mittel:	1,81

Leider war es auf diese Weise nicht möglich, zu einer konstanten Einstellung der Wasserstoffpotentiale zu gelangen, nach einigen Stunden waren die Werte fast immer um einige Millivolt verschoben. Auch die von *A. V. Hill*[1]) eingehend begründete theoretische Forderung, daß die beiden Platinelektroden im Gleichgewicht keinen Potentialunterschied haben, daß also hier die Werte der Spalten 1 und 4 und 2 und 3 unter sich gleich sein müssen, ist nicht erfüllt. Beides dürfte auf mangelhafte Wasserstoffsättigung zurückzuführen sein, da die Apparatur ein Umschütteln nicht erlaubte; die Messungen können also zur Errechnung des p_H nicht verwendet werden. In der Spalte 5 sind einige direkte Messungen des Membranpotentials durch Ableitung mit zwei Kalomelelektroden, deren eine das Serum, die andere das Dialysat berührte, mitgeteilt. Sie sind aus zwei Gründen unzuverlässig: einmal gestattete die verwendete Kompensationsanordnung die Messung so kleiner Spannungen höchstens mit einer Genauigkeit von 0,5 Millivolt, andererseits muß die nur sehr schwer vermeidbare Differenz der beiden Kalomelelektroden in Abzug gebracht werden. Infolgedessen ist eine

[1]) Proc. of the Royal Soc., Ser. A, **102**, 705, 1923.

Verwendung dieses direkt bestimmten Membranpotentials kaum möglich.

Nun sind aber die Werte der ersten vier Spalten durch Interpolation der Ausschläge des Kapillarelektrometers ohne Schwierigkeit auf 0,1 Millivolt genau bestimmbar. Aus ihnen läßt sich nun das Membranpotential durch Subtraktion der Werte von Spalte 1 und 2 und 3 und 4, die sämtlich mit derselben Normalelektrode bestimmt sind, berechnen, wie es in den Spalten 6 und 7 geschehen ist. Man sieht, daß diese Werte sich höchstens um 0,2 Millivolt unterscheiden. Ebenfalls war die Veränderung dieser Differenz nicht größer, wenn die Messungen nach mehreren Stunden wiederholt wurden, obwohl jetzt die absoluten Größen der ersten vier Spalten um mehrere Millivolt anders waren. Daraus kann man wohl auf eine große Zuverlässigkeit dieser Bestimmungsweise schließen. Spalte 8 enthält nun die Mittel aus 6 und 7, und man kann annehmen, daß dieseWerte den tatsächlichen Membranpotentialen sehr nahe kommen. Das Mittel sämtlicher Versuche ist 1,81 Millivolt. Hieraus ergibt sich $a^- : A^- = 1{,}074$ (20^0 C), während der größte Wert (2,2), 1,092 und der kleinste (1,6) 1,066 bedeutet. Der Mittelwert liegt also sehr nahe bei dem aus den analytischen Resultaten gefundenen 1,077, worin ich eine nicht unwesentliche Stütze für die Berechnungsweise der letzten Größe, wie ich sie im vorigen Abschnitt vorgenommen habe, erblicken möchte.

IV.

Man kann nun mit den gefundenen Größen an die Berechnung der Donnankorrektur des kolloidosmotischen Druckes des Serums herangehen. Vorher sei noch über Messungen dieses Druckes berichtet. Ich benutzte dazu die von *Krogh* angegebene Anordnung, die eine Verkleinerung der *Sörensen*schen[1]) Apparatur darstellt. Das Prinzip ist, daß man eine kleine Dialysierhülse mit einem Kapillarrohr verbindet, das zum Teil noch mit Serum gefüllt wird. Oben an diese Kapillare wird ein meßbarer variabler Luftdruck angeschlossen und derjenige Druck abgelesen, bei dem sich das Niveau nicht ändert. Zu diesem Druck wird die Steighöhe in der Kapillare, abzüglich der durch Kapillarkraft bewirkten, addiert. Die Ablesung nahm ich nach dem Vorgang von *Schade* und *Claussen* so vor, daß ich bei verschiedenen Drucken die Änderung des Niveaus in der Zeiteinheit mit dem Okularmikrometer des Ablesemikroskops bestimmte und daraus den Nullpunkt interpolierte. Bei der graphischen Darstellung ergibt die Kurve dieser Ablesungen in der Nähe des Nullpunktes keine Gerade, sondern

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **106**, 1, 1919.

ngiert ihn in der Weise des mitgeteilten Beispiels (Abb. 3). Dasselbe igt auch eine graphische Darstellung der Versuche *Sörensens*. Es hien daher die Ablesung an zwei zu beiden Seiten des Nullpunktes — esem möglichst gleich nahe — gelegenen Punkten denen in größerer ntfernung vorzuziehen, wie sie *Schade* nd *Claussen* in der Annahme, daß es ch um einen geradlinigen Verlauf ndele, vornehmen.

In dieser Weise wurden von einer eihe von Seren je vier bis sechs arallelbestimmungen ausgeführt. Die aximalen Unterschiede der einzelnen arallelbestimmungen waren etwa 0 Proz. Das Mittel sämtlicher Drucke g bei normalen Seren ziemlich genau ei 40 cm Wasser (37° C). Die Extreme aren 36,6 und 42,5. *Krogh* fand bei inen Messungen mit derselben Appatur 40 bis 52 cm H_2O, *Schade* nd *Claussen* mit dem von ihnen onstruierten „Onkometer" 2,5 cm Hg (beides für Plasma). Worauf ie Unterschiede beruhen, ist unbekannt; eine mögliche Erklärung ird unten diskutiert werden.

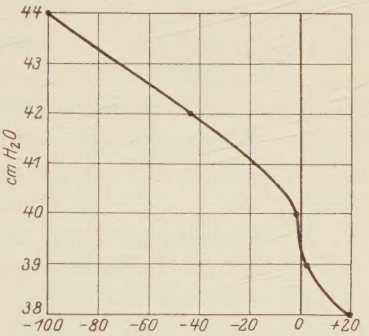

Abb. 3.
Die Abszisse bedeutet die Niveauverschiebung in der Kapillare in Teilstrichen des Okularmikrometers pro Minute.

Um die absolute Größe des kolloidosmotischen Druckes mit der Donnankorrektur zu vergleichen, möchte ich den von mir gefundenen Wert in Rechnung setzen, da er unter den gleichen Bedingungen gewonnen ist, unter denen auch das Membrangleichgewicht untersucht wurde: Verwendung gleicher Ringerlösung und gleichen Verhältnisses der Mengen von Serum und Dialysat.

Es soll nun die Donnankorrektur, also die Größe $A^- + K^+ - 2\,a$, berechnet werden. Der Gefrierpunkt des Serums und also auch des Dialysats ist $-0{,}56^0$; er entspricht einer osmotischen Konzentration von 0,303 m [*Höber*[1])]. Diese ist im wesentlichen auf Elektrolyte zurückzuführen, und nimmt man sie wieder zu 85 Proz. ionisiert an, so ergibt sich die Konzentration der Ionen einer Ladung, also a^-, zu etwa 0,140 n. Benutzt man jetzt zur Errechnung von A^- und K^+ das Verhältnis $K^+ : A^- = 1{,}075$, das etwa in der Mitte zwischen dem aus den Analysen und dem aus den Potentialen gefundenen liegt, so ergibt sich für $K^+ = 0{,}140 \,.\, 1{,}075 = 0{,}150\,50$ und $A^- = 0{,}140 : 1{,}075 = 0{,}130\,23$ und $A^- + K^+ - 2\,a = 0{,}000\,73$. Der Druck der Donnankorrektur würde also einer 0,000 73 n Lösung entsprechen, dieser beträgt bei 37° C

[1]) Physik. Chem. d. Zelle u. d. Gew., 5. Aufl., S. 30.

18,6 cm Wasser. Die beiden Voraussetzungen dieser Berechnung, nämlich die Annahme von $a^- = 0{,}140$ n und das Verhältnis $a^- : A^- = 1{,}075$ sollen nicht als absolut sicher hingestellt werden; es ist daher von Interesse, die Donnankorrektur auch für Werte auszurechnen, die von denen hier angenommenen abweichen. Nimmt man $a^- : 0{,}130$ an, so ergibt sich für $a^- : A^- = 1{,}075 : K^+ = 0{,}12093$ und $A = 0{,}13975$; die Donnankorrektur ist 0,00068 n oder 17,3 cm Wasser. Variiert man andererseits $a^- : A^-$ von 0,1070 bis 0,1080, so ändert sie sich bei $a = 0{,}140$ von 0,00064 n = 16,3 cm Wasser bis 0,00083 n = 21,1 cm Wasser. Daß ein geringer Anteil der Ionen des Serums zweiwertig ist, ist hier nicht berücksichtigt worden, dürfte aber ohne nennenswerten Einfluß sein.

Das Ergebnis wäre also, daß von 40 cm kolloidosmotischem Druck 18,6 cm auf die Donnankorrektur entfallen, also nach der obigen Darstellung nicht auf die Konzentration der indiffusiblen Eiweißteilchen zurückzuführen sind, sondern durch kristalloide Teilchen ausgeübt werden, deren Konzentration auf der Seite des Serums infolge des Membrangleichgewichts größer ist. Für diesen Anteil kann man theoretisch die Veränderlichkeit unter bestimmten Bedingungen voraussagen. Einmal ist die Größe des Membrangleichgewichts von der Salzkonzentration in der Weise abhängig, daß es mit verringertem Salzgehalt zunimmt. Verkleinert man die Salzkonzentration im Osmometerversuch dadurch, daß man Serum gegen destilliertes Wasser dialysiert, so findet man tatsächlich ein Ansteigen des kolloidosmotischen Druckes, wie sich aus einigen von mir ausgeführten Versuchen ergibt. Dasselbe fanden schon 1902 *Moor* und *Parker*[1]) bei Schafserum. Eine zweite praktisch bedeutendere Konsequenz ist die, daß der kolloidosmotische Druck von p_H abhängig sein muß, da ja die Ionisation der Eiweißkörper und damit die Zahl der für das Membrangleichgewicht maßgeblichen indiffundiblen Ladungen mit der Entfernung vom isoelektrischen Punkte zunimmt. Tatsächlich haben *Adamson* und *Roaf*[2]) gefunden, daß der osmotische Druck des Serums erst ab-, dann wieder zunimmt, wenn Säure zugesetzt wird, bei Alkalizusatz sofort ansteigt. Es ergibt sich daraus die Notwendigkeit, die Messung des kolloidosmotischen Druckes bei bestimmtem p_H vorzunehmen. Es besteht die Möglichkeit, daß bei den Bestimmungen von *Krogh* und von mir die Reaktion durch die zur Dialyse verwendete Ringerlösung nach der alkalischen Seite verschoben ist und dadurch größere Werte gefunden sind als von *Schade* und *Claussen*, deren Apparatur den Druck bei der genuinen Reaktion des Serums zu messen gestattet. Es ist also

[1]) Amer. Journ. of Physiol. 7, 261, 1902.
[2]) Biochem. Journ. 3, 422, 1908.

für die gefundenen Ergebnisse die Einschränkung zu machen, daß sie nur unter den vorliegenden Versuchsbedingungen Gültigkeit haben, daß aber für die Übertragung auf physiologische Verhältnisse das p_H und die Unterschiede zwischen dem Plasma des strömenden Blutes und dem hier benutzten Spontanserum berücksichtigt werden müssen.

Von Interesse ist noch, daß sich aus den gefundenen Größen auch die mittlere Ladung und die Teilchenzahl der Serumkolloide berechnen läßt. Die Ladung in Äquivalenten n . $\Re$ ergibt sich aus $K^+ - A^-$ zu etwa 20 Millimol. Die Teilchenkonzentration entspricht dem nach Abzug der Donnankorrektur noch übrigbleibenden Drucke von etwa 21 cm Wasser. Das bedeutet bei 37° C 0,8 Millimol oder eine mittlere Teilchengröße von 85 000 (bei 7 Proz. Kolloiden). Das Äquivalentgewicht der beim p_H 7,8 vorliegenden Dissoziationsstufe würde dann etwa 3400 sein, das einzelne Teilchen im Mittel 25 Ladungen tragen.

Zum Schluß seien einige Arbeiten berücksichtigt, deren Ergebnisse quantitativ von den meinigen abweichen. *Lehman* und *Meesmann*[1]) haben sich mit dem Donnangleichgewicht zwischen dem Blute und dem Kammerwasser des Auges beschäftigt. Sie berechnen die Größe desselben allein aus vergleichender Bestimmung des Cl'-Gehaltes von Plasma und Kammerwasser, ohne dabei die Werte für den geringeren Wassergehalt des Plasmas zu korrigieren. Infolgedessen kommen sie zu Größen, die sich mit den sonst gefundenen nicht vereinigen lassen. Außerdem bestimmen sie ein Potential zwischen Blut und Kammerwasser von 6 bis 15 Millivolt und fassen dies als Donnanpotential auf. Wäre es ein solches, so würden z. B. 10 Millivolt einem Verhältnis $a^- : A^- = 1{,}5$ entsprechen; damit läßt sich selbst das von ihnen angegebene unkorrigierte Verhältnis $Cl_a : Cl_i$ nicht in Einklang bringen.

Mond[2]) kommt aus theoretischen Gründen zu der Anschauung, daß den Eiweißkörpern bei der Reaktion des Serums eine ins Gewicht fallende Ladung nicht zukommen und daß man nicht annehmen könne, daß das Defizit an Anionen, das die Analysen der anorganischen Bestandteile des Serums ergeben, durch dissoziiertes Eiweiß gedeckt sei. Dieses Defizit beträgt nach *Kramer* und *Tisdall* 25,8 Millimol[3]). Unter unseren Versuchsbedingungen ergab sich die Ladung der Eiweißkörper zu 20 Millimol. Es bleibt also tatsächlich ein gewisser — bei p_H 7,4 sicher noch größerer — Anteil des Anionendefizits ungeklärt, und meine Befunde stehen somit nicht im Widerspruch zu dem Vorhandensein einer unbekannten Säure, das *Mond* und *Netter*[4]) aus der elektrometrischen Titration des Ultrafiltrats postulieren. Die Tatsache, daß

[1]) Pflügers Arch. **205**, 210, 1924.
[2]) l. c.
[3]) Siehe aber die Anmerkung S. 218.
[4]) Pflügers Arch. **207**, 515, 1925.

die elektrometrische Titrationskurve des Serums im Gebiet zwischen der aktuellen Reaktion und dem isoelektrischen Punkte der Eiweißkörper ein Minimum der Pufferung aufweist, widerlegt meines Erachtens nicht absolut eine puffernde Wirkung der Eiweißkörper. Quantitativ reicht nämlich die hier vorhandene Pufferung aus, um eine Ladung von der Größe, wie sie hier gefunden wurde, möglich erscheinen zu lassen. Und daß diese Pufferung größtenteils durch indiffundible Stoffe bewirkt wird, zeigt die Titrationskurve des Ultrafiltrats, die in dem genannten Bezirk fast senkrecht verläuft. Bringt man die von *Mond* mitgeteilten Titrationskurven des Serums und des Ultrafiltrats auf denselben Maßstab und zeichnet sie ineinander, so zeigt sich, daß 10 ccm Serum 2 ccm n/10 HCl mehr verbrauchen, um von p_H 7,8 bis p_H 5,0 zu gelangen, als die gleiche Menge Ultrafiltrat. Dies entspricht 0,02 n entionisierter Säure und stimmt sehr gut mit der hier gefundenen Ladung der Eiweißkörper überein.

Nun bestehen noch zwei Bedenken, die ein weiteres quantitatives Studium notwendig erscheinen lassen. Einmal sind die Potentiale aus technischen Gründen nicht wie die Drucke bei 37° C gemessen worden; daß sie bei 37° von etwas anderer Größe sind, scheint aus folgendem Grunde wahrscheinlich: das p_H des Serums ändert sich bei Temperaturänderung kaum. Da aber die Dissoziationskonstante des Wassers stark von der Temperatur abhängt, bedeutet dasselbe p_H bei 37° stärker alkalische Reaktion als bei 20°. Zweitens treten nach den neueren Dissoziationstheorien an die Stelle der Ionenkonzentrationen die Aktivitäten, von denen nicht ohne weiteres anzunehmen ist, daß sie im Serum und Dialysat dieselbe Größe haben. Der Größenordnung nach aber dürften die bisherigen Bestimmungen schon ein zutreffendes Bild geben.

Zusammenfassung.

Es wird eine kurze Darstellung des Donnangleichgewichts in einer auf das Serum anwendbaren Form gegeben.

Die für dasselbe charakteristische Größe Anionenkonzentration im Serum : Anionenkonzentration im Dialysat wird aus vergleichenden chemischen Analysen zu 1,077 gefunden bei einem „nichtlösenden Raum“ von 7 Proz.

Es wird das Membranpotential gemessen. Aus dem Mittelwert 1,81 Millivolt ergibt sich dasselbe Verhältnis zu 1,074.

Daraus berechnet sich die Donnankorrektur zu 18,6 cm H_2O bei einem gesamten kolloidosmotischen Druck von 40 cm.